

氏 名	岡 田 和 嗣		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	第 4791 号		
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者		
学 位 論 文 名	Inhibitory Effects of Environmental Chemicals on Protein Disulfide Isomerase <i>in Vitro</i> (環境化学物質によるプロテインジスルフィドイソメラーゼの機能阻害作用)		
論文審査委員	主 査 教 授 船 江 良 彦	副 査 教 授 福 島 昭 治	
	副 査 教 授 圓 藤 吟 史		

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】内分泌攪乱化学物質(EDCs)による曝露がヒトの脳発達過程に悪影響を及ぼすことが危惧されている。我々はこれまでに、EDC であるビスフェノール A(BPA)の結合タンパク質をラット脳より単離、精製し、本タンパク質がプロテインジスルフィドイソメラーゼ(PDI)であることを同定した。PDI は  $T_3$  結合タンパク質としても知られており、BPA は  $T_3$  の結合を阻害したことから、BPA は甲状腺ホルモン作用を攪乱することが考えられた。本研究では、EDCs としての疑いがもたれているフェノール系化合物、フタル酸化合物、有機スズなどの 22 種類の環境化学物質について、PDI に対する作用について検討した。

【実験方法】本研究では、大腸菌内で His-tag 融合タンパク質として発現させたラット PDI の精製標品を用いた。環境化学物質の存在下で PDI の [ $^{125}I$ ]  $T_3$  結合能をラジオリガンド結合実験により測定し、阻害定数( $IC_{50}$ )を算出した。また、環境化学物質の存在下で PDI による還元型 RNase のリフォールディングを指標にイソメラーゼ活性を測定した。

【結果】PDI の  $T_3$  結合は BPA、テトラブromo BPA、テトラクロロ BPA、*p*-オクチルフェノール、*p*-ノニルフェノール、2,4-ジクロロフェノール、ペンタクロロフェノールによって濃度依存的に阻害された。このうち、テトラクロロ BPA は  $T_3$  よりも低い  $IC_{50}$  値を示した。また、PDI のイソメラーゼ活性は BPA、*p*-オクチルフェノール、*p*-ノニルフェノールといった非ハロゲン化フェノール基含有化学物質によって阻害され、環境化学物質による PDI の機能阻害には構造活性相関が見られた。

【結論】フェノール基含有化学物質の曝露は、PDI を介した甲状腺ホルモンの作用や新生タンパク質の成熟化に悪影響を及ぼす事が示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

内分泌攪乱化学物質(EDCs)による曝露がヒトの脳神経発達過程に悪影響を及ぼすことが危惧されているが、その作用機序は不明である。著者らはこれまでに、EDC であるビスフェノール A (BPA) の結合タンパク質をラット脳より単離、精製し、本タンパク質がプロテインジスルフィドイソメラーゼ(PDI)であることを同定している。PDI は、 $T_3$  結合タンパク質としても知られており、BPA は  $T_3$  の結合を阻害したことから、BPA は生体内において甲状腺ホルモンの作用に影響を及ぼすことが考えられた。本研究は、EDCs としての疑いがもたれているフェノール系化合物、フタル酸化合物、有機スズなどの 22 種類の環境化学物質について、PDI に対する作用を検討したものである。

本研究では、ラット由来 PDI 遺伝子のクローニングを行い、大腸菌内で His-tag 融合タンパク質として発現

させたりコンピナント PDI を精製して用いた。PDI の  $T_3$  結合に対する影響を検討するため、環境化学物質の存在下で PDI の [ $^{125}I$ ]  $T_3$  結合能をラジオリガンド結合実験により測定し、阻害定数 ( $IC_{50}$ ) を算出した。また、イソメラーゼ活性に対する影響を検討するため、還元型 RNase のリフォールディング活性を測定した。

その結果、PDI の  $T_3$  結合はフェノール系化合物、すなわち BPA、テトラブロモ BPA、テトラクロロ BPA、*p*-オクチルフェノール、*p*-ノニルフェノール、2,4-ジクロロフェノール、ペンタクロロフェノールによって濃度依存的に阻害された。また、PDI のイソメラーゼ活性は BPA、*p*-オクチルフェノール、*p*-ノニルフェノールといった非ハロゲン化フェノール基含有化学物質によって阻害され、環境化学物質による PDI の機能阻害には構造活性相関が見られた。EDCs による甲状腺ホルモン作用への影響は、核内甲状腺ホルモン受容体 (TRs) への作用が知られているが、本研究の結果では、TRs に対する  $T_3$  結合の  $IC_{50}$  値は、作用の強いものでも  $T_3$  の 2000 倍であったことから、これらの化学物質による TRs を介した作用は極めて低いことが考えられた。

以上の結果より、フェノール基含有化学物質の曝露は、PDI を介した甲状腺ホルモン作用や新生タンパク質の成熟化に悪影響を及ぼす事が示唆された。

本論文はヒトの脳発達過程における EDCs の影響及び作用機序の解明において新たな知見を得ており、また脳神経発達に影響を及ぼす可能性のある環境化学物質の試験法開発に寄与するものと考えられる。従って著者は博士 (医学) の学位を授与されるに値するものと判断された。